Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn.
Direktor: Prof. Dr. Selter

„Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussbarkeit des Kohlehydratspaltungsvermögens der Colibazillen gegenüber Saccharose, Salizin, und Dulcit."

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn.

Vorgelegt am 23. Oktober 1939

von

Wilhelm Joseph Hillemanns
aus Stolberg, Rhld.

Bonn 1939

Peter Froitzheim, Bonn, Adolfstraße 23

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Bonn.

Referent: Dozent Dr. med. Weiland
Korreferent: Prof. Dr. Tiemann.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546404_0122

Den Hauptbestandteil der Darmflora beim gesunden Menschen bilden die als Sammelbegriff in der Literatur bekannten Bakterien der Coli-Gruppe. Ihr Hauptvertreter ist das von Escherich im Jahre 1886 näher beschriebene und von ihm als Bakterium coli commune bezeichnete Bakterium. Er selbst wies bei seiner Beschreibung darauf hin, daß es sich hier um keine streng einheitliche Bakterienart, sondern um eine Gruppe nahe verwandter Keimarten handele. Dieser Umstand war mitbestimmend für die zahlreichen, teils sehr eingehenden Untersuchungen, die sich an die Entdeckung dieses Bakteriums anschlossen und die zum Ziele hatten, seine morphologischen, kulturellen, biologischen und serologischen Eigenschaften zu klären.

Auf Grund der so gewonnenen Erkenntnisse wurde eine immer weitergehende Differenzierung möglich, die eine sich daraus ergebende Trennung der einzelnen Bakterienspecies gestattete. Die Untersuchungsmethoden waren wechselvoll, die angewandte Technik verschieden, die Aufgabenstellung sehr mannigfaltig. Es ließen sich trotz der verschiedenen Wertung der erzielten Ergebnisse bei eingehender Betrachtung einerseits Haupteigenschaften herausfinden, die immer konstant blieben. Diese konnten zur Definition dieses Bakteriums verwandt werden. Andererseits zeigten sich Eigenschaften, die sehr inkonstant waren und teils nach der Untersuchungsmethode schwankten, teils aber auch von irgendwelchen unbekannten Einflüssen abhängig waren.

Neben vielen anderen Reaktionen wurde die fermentative Leistung des Bakterium coli gegenüber Kohlehydraten immer mehr Gegenstand des Interesses und zur Diagnostik und Systematik der gramnegativen Darmbakterien herangezogen.

Im Laufe der bakteriologischen Untersuchungstechnik erwies sich für die Beurteilung des Angriffsvermögens des Bakterium coli gegen-

über K.H. als wichtig, zu unterscheiden zwischen einem Säure- und Gasbildungsvermögen.

Im Folgenden sei nun an Hand einer kurzen Übersicht gezeigt, wie gerade das Verhalten des Colibazillus den K.H. gegenüber neben vielen anderen Reaktionen zur Klassifizierung und zur Abtrennung gegenüber anderen Keimen herangezogen wurde. Hierbei sei der Saccharose, dem Salizin und dem Dulcit die größere Aufmerksamkeit gewidmet.

Schon Escherich forderte 1895 für die zur Coligruppe gehörenden Bakterien die Fähigkeit, aus Glukose und Laktose Gas und Säure zu bilden. Gerade dieses Angriffsvermögen wurde eins der Hauptcharakteristika des Colibazillus. Das Fehlen dieses Gärungsvermögens gegenüber diesen Zuckerarten erlaubt seine Abtrennung gegen artverwandte Keime.

Man begnügt sich heute mit dem Gasbildungsvermögen aus Glukose und dem Säurebildungsvermögen aus Laktose, da sich im Laufe der Untersuchungen zeigte, daß, wenn ein Keim aus Glukose Gas bildet und aus Laktose Säure, auch immer ein Gasbildungsvermögen aus Laktose vorhanden ist.

Das gleiche Verhalten wie dem Traubenzucker gegenüber zeigt der Colibazillus nach Jensen auch den meisten anderen Hexosen gegenüber, ferner unter den Pentosen gegenüber der Arabinose, unter den Zuckeralkoholen namentlich gegenüber dem Mannit. Unter den anderen Disacchariden pflegt Malzzucker wie Traubenzucker zersetzt zu werden, jedoch sind Abarten bekannt, die dazu nicht imstande sind, während sie Rohrzucker vergären (Bahrs Pseudocolibazillus).

Nach Th. Smith und C. O. Jensen, die das Gärungsvermögen von 150 aus Mensch und Tier herrührenden Colistämmen eingehend prüften, wird Rohrzucker nur von einem Teil angegriffen. Sie unterscheiden deshalb zwei große Gruppen von Colibazillen α u. β Th. Smith, bzw. A. u. B. Jensen. Letzterer unterteilt diese dann wieder je nachdem sie Rhamnose, Xylose, Glycerin, Dulcit und Adonit zersetzen. Allein durch dieses Verhalten ist schon eine große Mannigfaltigkeit der Coliabarten gekennzeichnet.

A. Capaldi u. B. Proskauer stellten 1896 zuerst vergleichende Versuche an, um auf Grund der Säurespaltung aus K.H. sowie aus mehrwertigen Alkoholen den Coli- vom Typhusbazillus zu unterscheiden. Beide Autoren erhielten jedoch keine verwertbaren Ergeb-

nisse, da sie dem Nährboden zu wenig der zu prüfenden Substanz zusetzten.

Erst die systematischen Versuche von v. Drigalski u. Conradi 1(02), zwischen der Typhus- und Coligruppe durchgreifende biochemische Unterschiede zu finden, führten zu einem Resultat. An K.H. und mehrwertigen Alkoholen wurden von ihnen geprüft: Glukose, Fruktose, Galaktose, Mannit, Dulcit, Arabinose, Xylose, Rhamnose, Saccharose, Laktose, Maltose, Amylum, Inulin und Dextrose. Bei der vergleichenden Betrachtung des Gärvermögens vom Coli- und Typhusbazillus spaltete Coli Glukose und Saccharose, Dulcit dagegen nicht. Bei seinen Untersuchungen fand Grimbert wiederum, daß die Saccharose zersetzenden Colistämme selten sind.

Bei der Nachforschung über die Verbreitung des Colibazillus in der Natur, besonders aber im Trinkwasser teilte Mac Conkey (1909) die milchzuckervergärenden Mikroorganismen in 4 Gruppen, je nachdem sie Rohrzucker oder Dulcit, oder beide oder keine von beiden vergoren.

Nach Untersuchungsreihen an Coli und Typhus-Enteritis Bakterien fand Burk 1908 als eines der wesentlichsten Unterscheidungsmerkmale zwischen beiden Gruppen die Fähigkeit der Coli, Milchzucker zu vergären. Bei der weiteren Prüfung anderen K.H. gegenüber fand er die von Smith erwähnten Resultate bzgl. der Rohrzuckerspaltung der Coli bestätigt. Von seinen 139 Stämmen vergoren 45 = 32% Saccharose, 94 = 68% dagegen nicht. Seine auf Grund des Saccharosewachstums gebildeten Abteilungen (analog der Smith'schen α- u. β-Reihe, A. u. B. Jensen) zeigten keine anderen Merkmale ausschließlich für sich. Er schlug daher vor, die bisher gefundenen Unterabteilungen des Colibazillus wieder in je eine Saccharose und eine sie nicht zerlegende zu trennen. Diese Trennung erfolgte nach einem qualitativen statt nach einem quantitativen Gesichtspunkte und schien deshalb von diagnostischem Wert. Eine Gruppenaufteilung der Coli nach ihrem Angriffsvermögen gegenüber Dulcit läßt sich nach seiner Ansicht nicht vornehmen, da von 22 verschiedenen Colikulturen 20 Dulcit unter Säurebildung spalteten.

Germano und Maurea (1893) konnten unter 88 Stämmen 30 verschiedene Arten herausstellen, aus denen sich wiederum folgende 3 durch ihre Häufigkeit auszeichneten:

	Bewegl.	Milchkoagul.	Indol.	Rohrz. S.	Rohrz. G.	Traubenz. S.	Traubenz. G.	Milchz.
1.	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	+	+	+	+	+	+	+	—
3.	+	—	+	+	+	+	+	+

Ebenfalls teilte Durham (1901) die Coligruppe ein nach dem Verhalten gegenüber Traubenzucker, Milchzucker und Rohrzucker:

	Glukose	*Laktose*	*Saccharose*
1. Paracoli	+	—	—
2. Coli commune	+	+	—
3. Coli communior	+	+	+

Bei der Differenzierung der Coli- und Typhusbazillen legt Segin das Verhalten gegenüber Traubenzucker und Milchzucker zugrunde:

	Traubenzucker	*Milchzucker*
Colibazillus	+	+
Typhusbazillus	+	—

Unter anderen Zuckerarten wird Laktose, Glukose, Maltose, Fruktose und Mannit von Coli gespalten, dagegen Dulcit und Raffinose wird selbst nach 8 Tagen nicht angegriffen.

Neben den von Mac Conkey vorgeschlagenen Zuckerproben zur Differenzierung der Colibazillen sucht F. W. Twort (1907) noch andere Gärproben zu finden, um bis jetzt noch nicht unterscheidbare Mikroorganismen voneinander zu trennen. Eine große Anzahl von Glukosiden wird durch viele Mitglieder der zur Typhus-Coligruppe gehörenden Bakterien vergoren. Dagegen wird bei seiner Aufstellung Saccharose vom Bakterium coli Escherich nicht angegriffen, Salizin und Dulcit dagegen wohl. Nach seiner Ansicht läßt sich keine scharfe Grenze zwischen den verschiedenen Untergruppen von laktosevergärenden Mikroorganismen ziehen. Den Versuch, sie nach ihrem Verhalten gegenüber Laktose, Saccharose und Dulcit zu differenzieren, bezeichnet er als gesucht. Die verschiedenen Untergruppen faßt er nicht als scharf geschiedene Arten auf, sondern als Varietäten einer oder mehrerer Arten. Er stellt anschließend Versuche an, verschiedene Mikroorganismen zum Variieren zu bringen. Auf das Varietätenproblem beim Colibazillus wird noch näher einzugehen sein.

Bei vergleichenden Untersuchungen einiger Coli- und Para-

typhusstämme stellten Burri und Andrejew (1910) Saccharose vergärende und nicht vergärende Colistämme fest. Sie schlugen vor, bei Untersuchungen über die pathogenen Eigenschaften der Coligruppe gerade das Gärungsvermögen der isolierten Colibazillen gegenüber Saccharose in jedem Falle zu prüfen.

Springer bespricht eingehend den Befund vom Paratyphusbazillus Typ A in der Gallenblase und geht zum Schluß auf das Verhalten der Bakterien der Typhus-Coligruppe gegenüber verschiedenen Zuckerarten ein, von denen hier nur das Bakterium coli commune erwähnt sei. Erstmalig findet sich bei ihm eine Angabe über die Dauer der Beobachtungszeit. Diese ist aber für die Beurteilung von großer Wichtigkeit. Darauf wird noch zurückzukommen sein. Bei einer Beobachtungszeit von insgesamt 8 Tagen zeigte er, daß Coli bei Fruktose, Galaktose, Glukose bereits nach 20 Stunden einen Farbumschlag des Indikators bewirkte, ebenfalls bei Maltose, Laktose und Mannit. Rohrzucker und Inulin blieben selbst nach 8 Tagen unverändert. Dulcit dagegen wurde teils angegriffen, teils nicht.

Daß Colibazillen, einerlei welchen Ursprungs sie sind, lösliche Mono- und Disaccharide vergären, stellte weiterhin Schmidt fest. Und zwar wird Laktose schneller und leichter angegriffen als Saccharose. Unlösliche K.H., wie z. B. Stärke, werden nur bei Gegenwart von Fermenten wie Pankreatin oder Pepsin vergoren.

Ebenfalls erkannte Jackson die Bedeutung der Zuckervergärung für die Unterscheidung von Unterarten des Bakterium coli, und Stokes, Royal und Stoner nennen unter den für die Coli-Diagnose geeignetsten Zuckerarten Dextrose, Laktose und Saccharose.

Park prüfte insbesondere das Verhalten von 44 Colistämmen gegenüber Saccharose und fand, daß ein Drittel aller Colistämme Saccharose nicht vergärte.

J. J. Kligler untersuchte 80 zur Coligruppe im weitesten Sinne gehörende Stämme. Nach ihrem Angriffsvermögen gegenüber Saccharose ließen sich 2 Hauptgruppen aufstellen, die dann wiederum je nach dem Verhalten gegenüber Salizin und Dulcit in Untergruppen geteilt wurden:

	Saccharose	*Salizin*	*Dulcit*
Bakt. aerogenes	+	+	—
B. coli communior	+	—	+
B. coli communis	—	+	+

B. acidi lactici.

Die von Jensen nach ihrem Verhalten gegenüber Saccharose aufgestellten 2 Untergruppen A und B konnten später von ihm selbst in 3 weitere Typen von A und 5 der Gruppe B aufgeteilt werden. Hierbei war das Verhalten gegenüber den 5wertigen Alkoholen Arabinose und Rhamnose, sowie den 6wertigen Alkoholen Sorbit und Dulcit maßgebend. Diese Typen wurden dann nochmals von Stickdorn auf 5 der Gruppe A und 8 der B-Gruppe erweitert. Zudem stellte er neben den beiden Gruppen A und B noch eine dritte C auf, die in keiner Zuckerart Gas bildete.

Bei der Differenzierung von Bakterium coli und Bakterium aerogenes maßen Duthoit und Gernez dem Spaltungsvermögen gegenüber Dulcit große Bedeutung bei. Alle Stämme, die dieses Vermögen nicht besaßen, sonst aber alle Eigenschaften des Bakterium coli aufwiesen, sahen sie als Bakterium aerogenes an.

Es sei hier noch auf die bedeutende Rolle hingewiesen, die Bergey in seinem großen Handbuch zur Definierung und Klassifizierung der Coli-Bakterien dem Salizin und Dulcit zuweist. Auf Einzelheiten hier einzugehen, würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten.

Dem Verhalten des Colibazillus gegenüber Saccharose und Dulcit wandten auch Park und Williams (1925) ihr besonderes Interesse zu. Sie stellten, auf die Untersuchungsergebnisse von Smith und Mac Conkey fußend, 4 Hauptgruppen auf:

	Saccharose	*Dulcit*
Bakt.coli commune	—	+
Bakt.coli communior	+	+
Bakt. acidi lactici	—	—
Bakt. aerogenes	—	+

Nissle gibt 1929 die Einbeziehung der Saccharose nicht vergärenden, Laktose aber spaltenden Colibakterien in den Begriff des „coli imperfektum" an.

Nach ihrem Verhalten zu den geprüften Zuckerarten, der Indolreaktion und zum Blutagar stellt Ryti (1931) bei 304 Colistämmen 14 Gruppen auf.

In seiner großen Systematik fordert Haupt (1936) von dem Coli Escherichia neben anderen Eigenschaften bzgl. des K.H .Spaltungsvermögens, daß Gas und Säure gebildet wird aus Dextrose, Lävulose, Galaktose, Arabinose, Laktose, Maltose, Raffinose, Salizin, Mannit,

Dulcit, Sorbit und Dextrin, dagegen soll Saccharose und Adonit nicht gespalten werden. Wird auch Salizin und Dulcit nicht angegriffen, so bezeichnet er diese Art als Escherichia vesikuliformans. Wird Saccharose unter Gas und Säurebildung gespalten, ist zudem der Kulturbelag auf festem Nährboden von grauer bis schmutzig weißer Farbe, bei durchfallendem Licht bläulich (abweichend von Esch.coli) so handelt es sich um Escherichia coli communior. Escherichia pseudocoloides liegt vor, wenn Säure und Gas aus Adonit, dagegen keine Säure und Gas aus Dulcit gebildet wird. Bleibt Salizin und Dulcit unangegriffen, so nennt er diese Art Escherichia pseudocoscoroba. Escherichia alcalescens liegt vor, wenn die Indolbildung wechselnd ist und zudem Salizin nicht angegriffen wird.

Diese knappe Übersicht erhebt keinesfalls bei der Fülle des vorliegenden Materials Anspruch auf Vollständigkeit. Sie zeigt aber, wie die Ansichten der verschiedenen Autoren über die Fähigkeit des Colibazillus, zahlreiche Kohlehydrate anzugreifen, auseinander gingen. Für die Systematik der Colibakterien aber, zu der die eine oder andere fermentative Leistung teils mehr teils weniger einen Anlaß bot, bedeutete dies eine ständige Erweiterung. Diese ließe sich bei einem größer gestellten Aufgabenkreis und bei Vermehrung der verschiedenen Kohlehydrate in extenso fortführen, der eigentliche Zweck einer Systematik aber, Klarheit und Ordnung in ein bisher ungeordnetes Gebiet zu bringen, würde nicht erreicht werden.

Der Grund aber für all die gegensätzlichen Meinungen in der Beurteilung ist einmal in der unterschiedlichen Untersuchungstechnik, zum zweiten in der wechselvollen Beobachtungszeit, zum dritten aber in der Inkonstanz und Variabilität der eigenen Merkmale des Colibazillus selbst zu suchen. Von welch eminenter Bedeutung gerade die Dauer der Beobachtungszeit bei derartigen Untersuchungen ist, darauf haben in letzter Zeit Kristensen, Bojlen und Kjaer, Minning und Staberow in ihren Arbeiten hingewiesen.

Nissle sagt im Handbuch der path. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann 1929:

„Wollte man zum Zweck einer Gruppenaufteilung, wie sie von verschiedenen Autoren versucht wurde, die Colibakterien je nach ihrem Verhalten gegen die vielen verschiedenen Zuckerarten und mehrwertigen Alkohole, nach Beweglichkeit, Indol- und Phenolbildung, hämolytischem Vermögen und dem Grad ihrer antagonistischen Fähigkeiten in Unterarten sondern, so würde sich, auch wenn man

nur während mehrerer Umzüchtungen gleichmäßig fortdauernde Eigenschaften berücksichtigen wollte, eine solche Vielheit ergeben, daß damit der beabsichtigte Zweck einer klaren Übersicht nie erreicht würde. Dabei ist noch zu bedenken, daß bei der ausgesprochenen Neigung des Bakterium coli zur Variabilität der Begriff der Konstanz inbezug auf manche Merkmale vielfach doch nur für eine kürzere Zeitspanne Geltung hätte, und daher nicht selten später Umgruppierungen erforderlich würden. Man wird sich daher auf die nach unseren Kenntnissen wichtigsten Merkmale beschränken müssen und danach die Unterlagen für ein dem praktischen Bedürfnis angepaßtes Schema auswählen."

Wie aus den vorstehenden Ausführungen zu ersehen ist, ist das Problem der Bakterienvariabilität gerade bei der Coligruppe von besonderer Bedeutung.

Die ganzen Versuche über Bakterienvariabilität überhaupt nahmen ihren Ausgang von Neisser und Massini.

Im Jahre 1906 teilten M. Neisser und Massini eigentümliche biochemische Veränderungen bei einem Colistamm mit, der aus dem Fäces eines Gastroenteritis-Kranken gezüchtet war. Auf Endoagar gingen nämlich zunächst farblose Kolonien auf, wie sie der Typhusbazillus bildet. Auf diesen farblosen Kolonien entwickelten sich dann aber vom 3. Tage ab kleine weiße oder meist rote Knötchen. Stach man von einer farblosen Kolonie am ersten Tage ab, so entstanden stets lediglich farblose Kolonien. Wurde jedoch erst am 3. oder 4. Tage weitergeimpft, so kamen neben farblosen auch einige intensiv rotgefärbte Kolonien auf. Von diesen roten Kolonien waren ganz regelmäßig nur rote Tochterkolonien zu gewinnen. Die farblosen Kolonien hingegen ließen am 1. Tage immer farblose, vom 4. Tage ab farblose und intensiv rot gefärbte Kolonien hervorgehen. Diese Eigenschaft war an zwei Voraussetzungen gebunden: einem gewissen Alter der Kolonie, und der Anwesenheit von mindestens 0,1% Milchzucker im Nährboden. Ein Zusatz von anderen K.H. zum Nährboden ließ niemals Knötchen entstehen. Da die Knötchenbildung plötzlich einsetzte, die erworbene Eigenschaft der Milchzuckerzersetzung aber auch bei Weiterzüchtung sich konstant erhielt, so erklärten Neisser und Massini den Vorgang als Mutation. Sie nannten ihren in der Mutationsperiode befindlichen Stamm „Bakterium coli mutabile".

Die vorerwähnten Versuche wurden zuerst 1908 von Reiner

Müller und Burk bestätigt. Während Neisser und Massini die Mutation ihres Bakteriums an die Anwesenheit von Michzucker gebunden glaubten, ging Reiner Müller einen Schritt weiter und erbrachte den Beweis, daß nicht nur auf Milchzucker als Mutation gedeutete Erscheinungen wahrgenommen wurden, sondern auch auf anderen Kohlehydraten. So wurde auf Rhamnose, Arabinose, Erythrit, Adonit, Dulcit und Saccharose Knötchenbildung hervorrufen. Bei seinen Versuchen erfolgte der Übergang nicht allmählich über alle möglichen Zwischenstufen, sondern sprungweise und deshalb glaubte er, bestehe die Ansicht Neissers zu Recht, wenn er diese Änderung der Eigenschaften als eine Mutation auffasse.

Gegen diese Ansicht einer plötzlichen Änderung der Eigenschaften im Sinne einer Mutation erhoben zuerst Reichenbach, Beneke sowie Pringsheim Einspruch. Sie erklärten, es handele sich hier um eine allmähliche Anpassung an bestimmte Wachstumsbedingungen. Diese vorgebrachten Meinungen wurden dann 1910 von Burri durch eigene Versuche in dieser Richtung unterstützt. Er beobachtete, daß ein aus gärendem Grase gezüchteter Colistamm, der vorher Saccharose nicht vergor, durch geeignete Züchtung in saccharosehaltigen Nährböden in einen saccharosevergärenden Stamm überführt werden konnte. Und zwar ließ sich hier nicht etwa ein sprunghaftes, urplötzliches Entstehen dieser Fähigkeit der Rohrzuckervergärung feststellen, sondern ein allmähliches, in den einzelnen Phasen erkennbares Fortschreiten des Gärungsvermögens von einem Minimum zu einem Maximum. Aus dem Coli imperfektum wurde nach und nach ein Coli perfektum. Burri stellte ferner fest, daß, je älter die flüssige saccharosehaltige Colikultur war, die auf Saccharoseagar übertragenen Keime diese desto schneller angriffen. Zweitägige Flüssigkeitskulturen bewirkten bei ihm nach 3 Tagen, dreitätige bereits nach 24 Stunden die Zersetzung der Saccharose. Diese Versuche veranlaßten Burri die Mutationstheorie von Neisser und Massini abzulehnen und von einer allmählichenAnpassung zu sprechen. Er nahm an, daß hier keine neue Eigenschaft erworben sei, vielmehr nur eine in der Anlage vorhandene aber „latente" Fähigkeit entwickelt werde. Zu der Annahme einer allmählichen Anpassung des Mikroorganismus an die ihm gebotenen besonderen Entwicklungsbedingungen berechtigte ihn aber noch ein zweites:

Nach den Erfahrungen über Mutation in der Pflanzenwelt hätte man erwartet, nur einzelne wenige Individuen hätten diese Fähigkeit erworben, aber bei ihm erwarben sämtliche Individuen einer Kultur ein solches Gärungsvermögen, sofern natürlich günstige Entwicklungsbedingungen vorhanden waren. An diese grundlegenden prinzipiellen Untersuchungen über die Variabilität bzw. Inkonstanz der Merkmale des Bakterium coli schlossen sich eine ganze Reihe in dieser Richtung verlaufende Untersuchungen. F. W. Twort (1907) erbrachte auch den Beweis, daß tatsächlich Stämme der Typhus-Coligruppe ein neues Gärungsvermögen gegenüber einer Zuckerart erwerben können, sobald sie mit eben dieser Zuckerart längere Zeit hindurch in Kontakt gebracht werden. Besonders hebt er hervor, daß diese Funktionsänderung langsam eintrat. Meist waren sogar viele Generationen hintereinander nötig, ehe die neue Fähigkeit voll entwickelt war.

Bisher waren die als Mutation gedeuteten Veränderungen nur in der Kultur erzielt worden. Bärthlein (1918) gelang es, mutierende Colistämme sofort aus dem menschlichen oder tierischen Organismus zu gewinnen. Er zog den Rückschluß, daß die Mutationsvorgänge demnach auch im Körper des Menschen ausgelöst werden. Seine Versuche hinsichtlich der Mutation bezogen sich nicht nur auf die fermentative Leistung gegenüber Kohlehydraten, sondern auch auf das morphologische, kulturelle und serologische Verhalten. Hierin zeigte aber das gewöhnliche Bakterium coli die gleiche Wandlungsfähigkeit wie das Bakterium coli mutabile .Er knüpft daran die berechtigte Ansicht, daß diese bei der Diagnose der Colibakterien zu Irrtümern führen kann. Gerade aber bei den aus Menschen gezüchteten Stämmen solle man bei der Differentialdiagnose besonders den Mutationsvorgängen besondere Beachtung schenken.

Burri und Andrejew (1910) berichten von zwei Colistämmen, bei denen das Saccharosespaltungsvermögen zuerst nur bei einem geringen Teil der ausgesäten Keime in einer Kultur möglich war. Nach Abimpfung vereinzelter Kolonien von dem betreffenden Saccharoseagar auf eine neue Saccharoseagar-Schüttelkultur trat dieses Spaltungsvermögen sofort auf und zwar bei allen ausgesäten Keimen. Diese Eigenschaft zeigten alle weiteren Tochterkolonien. Diese Veränderung wurde von dem Verfasser als eine ausgesprochene Anpassung gedeutet und nicht als eine Mutation.

Jaffé (1912) geht sogar so weit und hält eine Einteilung der gesamten Typhus-Coligruppe nur in kleinere Untergruppen für möglich, nicht aber in bestimmte Arten. Er begründet seine Ansicht damit, daß von beiden Extremen vom Typhus bis zum Coli commune alle Übergänge vorkommen, da eben die Eigenschaften ihrer Vertreter nicht konstant sind, sondern sich ändern können. Die Ursache hierfür liege einmal in der Zusammensetzung des Nährbodens, andererseits aber auch in dem Verhalten der Bakterien selbst.

Einen Colistamm, der anfänglich Milchzucker nicht angriff, beobachtete Prell. Nach 3tägigem Kontakt mit Laktose vermochte er diese doch anzugreifen. Eine dauernde Veränderung des Stammes erfolgte dabei nicht, vielmehr mußte bei jeder Weiterimpfung die Anpassung von neuem erfolgen. Prell selbst vertrat den Standpunkt, daß es sich bei derartigen Veränderungen nicht um eine Neuerwerbung der Vergärungsfähigkeit oder der Entwicklung neuer Fermente in Anpassung an das Substrat handele, sondern hier scheine es sich doch eher um eine Regeneration einer verloren gegangenen Fähigkeit zu handeln. Es wäre so zu denken, daß die Ausgangsform fermentativ reich begabt ist, daß aber im Laufe der Zeit ein allmähliches Einschlafen der Ausbildung praktisch nicht mehr in Frage kommender Fermente stattfindet. Andererseits werden solche Fermente intensiver ausgebildet, die jeweils der Art der anzugreifenden Substrate entsprechend benötigt werden. Prell faßt sein Resultat dahingehend zusammen, indem er sagt: Der scheinbare Erwerb neuer physiologischer Fähigkeiten ist beim Bakterium coli vorwiegend als Modifikation von regenerativem Charakter zu verstehen.

In einer anderen Arbeit bezeichnet er solche Stämme, die vorübergehend eine Eigenschaft scheinbar verloren haben als defekte Colistämme; diese seien aber nichts anderes als Sonderformen gewöhnlicher Colistämme. Es bestünde also kein qualitativer, sondern lediglich nur ein quantitativer Unterschied. Theoretisch könnte man so weit gehen und sagen, daß jeder Colistamm unter geeigneten Umständen inbezug auf die Laktosevergärung defekt werden kann, so daß sich dann die einzelnen Stämme nur noch graduell voneinander unterscheiden würden. Bakterium coli würde also auftreten können 1. in einer commune Form, die Milchzucker vergärt, 2. in einer mutabile Form, die Milchzucker nicht vergärt, aber durch Knopfmodifikation die commune Form

abspalten kann, 3. in einer paracoli Form, die Milchzucker nicht vergärt und diesen Charakter fest beibehält, und 4. in zahlreichen anderen Formen, für die besondere Namen je nach Bedarf eingeführt werden könnten. Prell berichtet, daß bei langer Zucht sogar auf einem indifferenten Substrate ein Milchzucker spaltender Coli einen laktosedefekten Pleonten abspalten kann und umgekehrt ein Milchzucker nicht vergärender Colistamm unter den gleichen Bedingungen einen Milchzuckervergärer. Die Veränderungen werden allerdings noch deutlicher, wenn man statt des indifferenten Nährbodens einen solchen verwendet, der der aufgetretenen Form besonders günstige Bedingungen bietet. Das plötzliche Auftreten von Gärfähigkeit für Milchzucker bei laktosedefekten Colistämmen dokumentiert sich natürlich schon als eine tiefgreifende Änderung in der fermentativen Leistungsfähigkeit dieses Stammes.

Auch Eisenberg (1918) beobachtete bei verschiedenen Coli- und Paracolistämmen Variationen der Koloniegröße und des Zuckerspaltungsvermögens (Laktose) und zwar in mannigfaltigen Kombinationen.

Mit der Frage der Entstehung der Variabilität der Mikroorganismen beschäftigt sich Anselmi (1924) unter Berücksichtigung der Eigenart des Verhältnisses vom Wirtsorgan zum Keim. An Hand von Beispielen eines saprophytischen und zweier parasitischer Colistämme kommt er zu dem Ergebnis, daß der saprophytische Colistamm zu Variationen neigt, der parasitäre dagegen nicht. Ferner sagt Nissle im Kolle-Wassermann, daß bezüglich des Grades der Umwandlungsfähigkeit von Colibakterien Unterschiede zwischen rein saprophytischen und solchen Stämmen zu bestehen scheinen, die aus pathologischen Prozessen gezüchtet werden.

Einen wesentlich neuen Faktor in das bisher besprochene Gebiet bringt Klieneberger. Sie versucht durch mehrmalige Überimpfungen bzw. Passagen einen Einfluß auf die Gasbildung auszuüben. Bei den meisten Stämmen ließ sich jedoch ein Einfluß der Passagen nicht nachweisen. Nur bei einem Stamm konnte eine Passagenwirkung insofern festgestellt werden, daß nach 10—20 Passagen bei einem Nichtgasbildner eine maximale Fähigkeit des Gasbildung erreicht wurde.

Die an einer großen Zahl von coliähnlichen Stämmen untersuchten Stammesvariationen werden von Stewart (1926) teils als

Mutation, teils als echte Mendelsche Faktorenspaltung aufgefaßt. Paracoli, coli mutabile, coli communior, coli commune sowie Friedländerbakterien gelten bei ihm nur als Mendelsche Varianten einer Art. Und zwar sei coli mutabile die zentrale heterozygote, Paracoli die rein dominante, coli die rein recessive Form. Diejenigen Formen, die K.H. nicht angreifen, sollen einen die Vergärung hemmenden Faktor enthalten; geht dieser nun durch Mendelsche Spaltung verloren, so entsteht eine für den betreffenden Zucker „virulente" Rasse.

P. v. Engering (1924) berichtet von einem Stamm, der anfänglich Gas aus Traubenzucker bildete und unbeweglich war. Nach verschiedenen Passagen durch Malachitgrünbouillon erfolgte eine Umwandlung in einen nicht gasbildenden aber beweglichen Stamm. Es war mithin ein Verlust des Gasbildungsvermögens aus Traubenzucker bei coli durch einzelne Passagen in Malachitgrünbouillon eingetreten. Die gleichen Ergebnisse hatten Revis und Seiffert erzielt.

Die Unterscheidung des Bakterium coli commune und communior bezeichnen Silberstein, Rappaport und Kolener als ziemlich willkürlich, da die bestehenden Differenzierungsversuche durch Mono-Disaccharide und mehrwertige Alkohole nicht die nötige Konstanz aufweisen. Sie unternahmen Versuche mit solchen K.H., die unter pathologischen Verhältnissen ganz anders wirken als die sonst gebräuchlichen Zucker. Von ihnen wurde das Dioxyaceton und der Siazucker benutzt. Sie konnten hierdurch 2 Colitypen unterscheiden, von denen der eine besonders bei Carcinomkranken vorkommt. Die beiden Typen ließen sich jedoch durch Passagen auf geeigneten Nährmedien wiederum ineinander überführen. Aber trotzdem waren sie unter gewissen Versuchsbedingungen noch differenzierbar.

In Kenntnis der so wechselvollen Merkmale des Bakterium coli schlägt König die mehrfache Umzüchtung der Colistämme vor, bevor man sie in ein Gruppenschema einordnet. Denn hierdurch erst können bisher latent gebliebene Merkmale auftreten. Die unter künstlichen Bedingungen so vielfach beobachteten Varianten faßt er gleich Prell als Verlustmodifikationen auf. Der scheinbare Erwerb neuer Eigenschaften bedeute meist nur ein Wiedermanifestwerden, eine Regeneration.

Ebenfalls drückt sich Standfuß (1929) inbezug auf die Um-

wandlungen des Bakterium coli gegen eine Mutation aus. Er deutet diese Veränderungen nur als eine Modifikation. Es kommt nach seiner Ansicht unter dem Einfluß ungünstiger Außenfaktoren zu einem Verlust einer charakteristischen Eigenschaft. Er sagt:

„Isoliert man zufällig ein Bakterium in diesem Zustande, so wird ein Rückschlag in die Stammform leicht irrtümlich als Abänderung des Artcharakters im Sinne des Neuerwerbs einer Eigenschaft beurteilt. Teilweise erfolgt der Rückschlag schon kurz nach Wiederkehr normaler Kulturbedingungen, oft ist er erst Sache geduldigen, wechselnden Experimentierens. Diese Erfahrungen sprechen dafür, daß die Umwandlungsformel des Bakterium coli in der Regel nicht als Mutation, sondern als Modifikation zu deuten sind, die aber teilweise den von der Norm abweichenden Phänotypus recht lange und zähe festhalten können."

Grjanko (1932) erwies eine gewisse Abhängigkeit der Zahl der auftretenden Varianten von der Zahl der differentiellen Nährböden. Sie stieg mit der Zahl der einzelnen Nährböden und je genauer man die differentiellen Merkmale des Bakteriums berücksichtigte. Er hält die Trennung in Unterarten und Bildung von besonderen Gruppen unter der Bezeichnung Paracoli oder Paracolibazillus für zu wenig begründet, zumal noch andere biologische Faktoren als bisher zu berücksichtigen sind. Alle diese Veränderungen der biochemischen Eigenschaften erklärt er als Variationen oder Wandlungsformen desselben Colibazillus.

Die Hauptunterschiedsmerkmale beim Dyspepsie-Coli Adams bestehen weniger in qualitativer als vielmehr in quantitativer Hinsicht, da er K.H. rascher vergärt und Gas in stärkerem Maße bildet als das Bakterium coli. Nebenbei ist auch noch die Beweglichkeit stärker und die Agglutination findet früher statt. Diesen Dyspepsie-Coli hält Moro für eine unter besonders günstigen Vegetationsbedingungen entstandene Mutationserscheinung des Bakt. coli. Eine Fingliederung in ein System der Coligruppe hält er nicht für möglich.

Untersuchungen an einer großen Zahl aus Wasser und Stuhl gezüchteter atypischer Coli resp. Paratyphus B und ähnlicher Bakterien brachten F. Hoder und E. Singer (1928) zu der Annahme, daß es sich bei all diesen Stämmen möglicherweise nur um veränderte Colistämme handele. Dies wiesen sie auch mit großer Wahrscheinlichkeit nach. Sie fanden einen Stamm, der durch sein kulturelles und serologisches Verhalten die Umwandlung vom Coli in

einen Paratyphus B Stamm wahrscheinlich machte. Nach ihrer Ansicht handelt es sich um Rückschläge eines veränderten Keimes in eine ursprüngliche Form. Durch teilweisen Verlust ihrer fermentativen Fähigkeit sind diese Keime aus coli commune hervorgegangen. Beide halten den Rückschluß für gerechtfertigt, daß man es bei allen ähnlichen aus Wasser, Stühlen und anderen Medien gezüchteten Keimen, die in die Gruppe atypischer Stämme fallen, mit Bakterium coli zu tun hat.

Man könnte die Reihe der Versuchsanordnungen, Ergebnisse und Ansichten der verschiedensten Autoren, die hinsichtlich des Varietätenproblems beim Bakterium coli angestellt und geäußert worden sind, weiter fortführen, aber dies würde zu weit gehen. Aus alledem ergibt sich die grundsätzliche Frage: Handelt es sich bei all diesen Variationen, die teils spontan, teils sich willkürlich durch geeignete Umwelteinflüsse hervorrufen lassen, um eine wirkliche Mutation oder lediglich nur um ein Manifestwerden einer bereits vorhandenen „latenten" Eigenschaft durch Umwelteinflüsse? Die meisten der vorhin erwähnten Autoren haben sich wohl für die letztere Ansicht entschieden.

Mit großer Wahrscheinlichkeit handelt es sich also bei all diesen scheinbaren Neuerwerbungen nur um ein Zurückkehren zu einer früher bereits dagewesenen Eigenschaft. Dies wäre so zu erklären: Ein Bakterium verliert eine bisher ausgeübte Eigenschaft phänotypisch durch nicht Inanspruchnahme derselben, oder durch besondere ungeeignete Umwelteinflüsse. Die scheinbar verloren gegangene Eigenschaft bleibt aber in Wirklichkeit genotypisch erhalten. Sie kann aus ihrer „Latenz" heraus durch bestimmte Außenfaktoren wieder manifest werden. Rein äußerlich wird dadurch der Eindruck eines vollkommenen Neuerwerbs irgendeiner Fähigkeit, nehmen wir an eines Zuckerspaltungsvermögens, erweckt. Eine derartige Auffassung müßte zwangsläufig eine Änderung in einem großen Teil der bisherigen Systematiken des Bakterium coli herbeiführen; denn, wie eingangs erwähnt, wurde gerade bei ihrer Aufstellung das unterschiedliche Zuckerspaltungsvermögen der einzelnen Arten zugrunde gelegt.

Auf die Wichtigkeit der Dauer der Beobachtungszeit wurde schon hingewiesen. Mit diesem Thema beschäftigten sich Kristensen, Bojlen und Kjaer, vor allem aber Staberow. Er er-

brachte durch seine Versuche den Beweis, daß bei einer genügend langen Beobachtung (21 Tage) fast alle von ihm geprüften Zuckerarten von seinen erwähnten Stämmen angegriffen wurden. Ferner zeigte er, daß eine einheitliche namensmäßige Eingliederung seiner untersuchten Stämme in eines der bakteriologischen Systeme von Castellani und Chalmers, Bergey sowie Haupt nicht mit Sicherheit durchzuführen war. Es schwankt eben je nach der Länge der Beobachtungszeit das Angriffsvermögen der Coli-Bakterien gegenüber einzelnen Zuckerarten. Durch diese weitgehende Unterschiedlichkeit wurde eine Einordnung einmal in dieses, ein ander Mal in jenes System unmöglich. Staberow schlägt dann folgerichtig vor, für diese bisher unter folgenden Namen laufenden Stämmen, wie Paracoli, Blaukeime, Dyspepsiecoli, coli mutabile, coli communior, coli imperfektum usw. die Bezeichnung „fermentschwache" Colistämme einzuführen. Einerseits ist die Eigenschaft, Laktose zu spalten, bei diesen Keimen nur als labiler Phänotyp zu werten. Bei geeigneten Untersuchungsmethoden kann er mit großer Regelmäßigkeit nachgewiesen werden. Andererseits dürfte die Bezeichnung „fermentschwache" am ehesten für den nicht speziell bakteriologisch arbeitenden Kliniker am eindeutigsten sein.

Aber nicht nur die Ausdehnung der Beobachtungszeit brachte eine beginnende Änderung in der Ansicht über die Systematik des Bakterium coli und enttäuschte die bisher darauf gesetzten Hoffnungen. Bisher für prinzipiell und qualitativ gehaltene Unterschiede im Zuckerspaltungsvermögen fielen dadurch weg. In der gleichen Weise schien die künstliche, kulturelle Beeinflußbarkeit des Zuckerspaltungsvermögens durch einzelne Passagen in entsprechenden Nährmedien hierfür einen Grund zu bilden.

Diesbezügliche Angaben sind im Schrifttum bisher nur wenige vorhanden. Die Untersuchungen von Klieneberger wurden bereits gestreift. Knoth konnte bei 28 coliähnlichen Stämmen, die ursprünglich auf Conradi-Drigalskiagar farblos wuchsen, nach 50 Passagen auf diesem Nährboden 4 nun Milchzucker spaltende Stämme feststellen. Ein Stamm erlernte die Milchzuckerspaltung schon nach einigen Passagen, sein Wachstum glich dann ganz dem eines Bakterium coli commune. Beim Nachweis paratyphusähnlicher Milchzucker nicht spaltender Keime, so sagt Knoth, handelt es sich in der Mehrzahl der Fälle nicht um Bakterien der Paratyphus-Enteritis-

gruppe, sondern um Colibazillen. Diese Stämme lassen einen Zusammenhang mit Bakterium coli communis zunächst nicht erkennen, sind in manchen Fällen erst nach Erlernung der Milchzuckerspaltung aus der Paratyphusgruppe auszuschließen und stellen somit modifizierte Formen des Bakterium coli commune dar.

Seydel konnte bei 44 gramnegativen, Laktose nicht angreifenden Bakterien nach mehr (15—30) oder weniger (12—15) zahlreichen Passagen in 1% Laktose-Peptonwasser 38 Stämme zur Laktosevergärung bringen. Verfasser vermutet, daß für die übrigen die Zahl der Passagen noch ungenügend war, und daß es sich um ursprünglich typische Colibazillen gehandelt habe. Das Laktosespaltungsvermögen sei unter besonderen Umweltbedingungen verloren gegangen, erst langsam sei es wiedererlangt worden. Daß diese zunächst laktosenegativen Colistämme bei der bakteriologischen Diagnostik zu Irrtümern führen können, ist wohl selbstverständlich.

Durch wiederholte Überimpfungen in Arabinosebouillon brachten Koser, Stewart und Vaugham gewisse Arabinose langsam vergärende Stämme der Coli-Aerogenes-Paratyphus-Dysenterie-Gruppe dazu, diese schnell zu vergären.

Von 36 sucrosenegativen Stämmen der Escherichia-Aerobaktergruppe erzielten Tregoning und Pol durch jeden 3. Tag vorgenommene Überimpfungen in Sucrosebouillon 9 sucrosevergärende Varianten. Dieses Vermögen trat bei den einzelnen Stämmen verschieden schnell auf, und im allgemeinen war die erworbene Eigenschaft der Sucrosevergärung sehr stabil.

Durch wochenlange Passagen über Milchzuckernährböden brachte B. A. Gerber eine große Anzahl menschlicher Stuhlcoli dazu, ihr Laktosespaltungsvermögen zu beschleunigen bzw. zu steigern. Bei den aus dem Wasser gezüchteten Coli blieb trotz längerer Züchtung auf laktosehaltigen Nährböden das Milchzuckerabbauvermögen unverändert abgeschwächt. Dieses Verhalten erklärt er als Folge verschlechteter Ernährungsbedingungen im Boden oder im Wasser.

Minning unternahm den Versuch, eine Beeinflussung des Laktosespaltungsvermögens von Colibakterien auf kulturellem Wege zu erzielen. Er wurde dabei angeregt durch die Arbeiten von Knoth und J. Seydel, die bereits vorhin erwähnt sind. Es wurden im ganzen 7 Colistämme gewählt, die auf Endoagar farblos wuchsen und erst nach verschieden langer mehrtägiger Bebrütung einen Farb-

umschlag in Laktose-Barsiekow zeigten. Sie waren also in ihrem Laktosespaltungsvermögen geschwächt. Es handelte sich also um jene Stämme, die unter der Bezeichnung „Paracoli, Blaukeime, Coliähnliche, Stämme der Intermediusgruppe" von den eigentlichen Colibakterien in ihrer systematischen Stellung abgetrennt werden. Er ging von der Annahme aus, daß auf derartige Stämme durch Passagen in einem laktosehaltigen Medium ein Reiz ausgeübt werde, der zu einer Stärkung der fermentativen Leistung führe. Deshalb überimpfte Minning seine Stämme nach jeweils 24 Std. 8 Tage hintereinander in Laktose-Barsiekow und hielt sie bei 37°.

In der Tat konnte er zeigen, daß mit zunehmender Anzahl der Passagen das Laktosespaltungsvermögen der einzelnen Stämme merklich erhöht wurde. Nach 8 Passagen in Laktose-Barsiekow, also nach 9tägiger Bebrütung erwarben von seinen 7 Stämmen 6 die Fähigkeit, Milchzucker in flüssiger Form schon innerhalb von 24 Std. zu zerlegen. Ein Stamm verhielt sich bei der Kontrolle gegenüber Laktose vollkommen refraktär, sodaß er für die weitere Untersuchung wegfiel. Nicht allein für flüssige, sondern auch für feste Indikatornährböden bewies Minning die Beeinflußbarkeit des Angriffsvermögens gegenüber Milchzucker durch entsprechende Passagen. Er sah in beiden Fällen den wesentlichen Faktor für eine Zunahme des fermentativen Charakters in der Anzahl der Passagen. Nach 15tägiger Bebrütung wurden in der 8. Passage von 6 im Versuch stehenden Stämmen 5 derartig in ihrer fermentativen Leistung gestärkt, daß sie, die ursprünglich farblos auf Endonährböden wuchsen, jetzt nur noch rote Kolonien mit Fuchsinglanz zeigten. Umgekehrt machte Minning den Versuch, diese rot wachsenden Kolonien wieder in weiß wachsende zurückzuführen. Das einerseits kulturell gesteigerte Säurebildungsvermögen sollte andererseits wieder abgeschwächt werden. Dies gelang ihm durch den Aufenthalt der untersuchten Stämme in 1% Peptonwasser an sich, weniger durch Passagen. Diese schienen im Gegenteil die Rückentwicklung der fermentativen Leistung zu behindern.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN.

In Ergänzung der in der Literatur bekannten Versuche, das Kohlehydratspaltungsvermögen der Colibazillen in vitro zu beeinflussen, wurden die Untersuchungen auf weitere Zuckerarten ausgedehnt, um eine möglichst breite Grundlage für die prinzipielle Beur-

teilung des Variationsproblems zu erhalten.

Es sollte in der vorliegenden Arbeit der Versuch unternommen werden, das Spaltungsvermögen der Colibakterien gegenüber Saccharose, Salizin und Dulcit durch einzelne Passagen in entsprechenden Nährmedien zu beeinflussen.

Der Grund dafür, daß das Disaccharid Saccharose, der mehrwertige Alkohol Dulcit und das Glykosid Salizin zu den vorliegenden Versuchen gewählt wurde, ist darin zu sehen, daß gerade diesen Stoffen, wie eingangs erwähnt wurde, in der Systematik der Colibakterien eine besondere Bedeutung zugemessen wird, wobei auch der Gedanke maßgebend war, aus jeder Gruppe der gärfähigen Substanzen einen Vertreter zu berücksichtigen.

Die Colibazillen unterscheiden sich von den Bakterien der Paratyphus-Enteritisgruppe durch das in ca. 30% vorhandene Saccharosespaltungsvermögen. Dulcit wird von fast allen Keimen der Paratyphus-Enteritisgruppe innerhalb 24 Std. gespalten, während Colibazillen fast ohne Ausnahme erst nach 2 Tagen bzw. überhaupt nicht spalten. Dem Salizin ist nur in systematischer Beziehung innerhalb der Coligruppe von Bergey, Castellani und Haupt eine Bedeutung zugemessen.

Die in dieser Arbeit verwandten Colistämme stammten aus laufenden Untersuchungen aus Stuhl- und Urinproben beim Untersuchungsamt am Bonner Hygienischen Institut. Die verschiedenen Stämme wurden isoliert von einzelstehenden auf Endo-Fuchsinagar eindeutig rot wachsenden Kolonien. Ganz vereinzelt wurden auch weiß wachsende Stämme gewählt. Sämtliche Stämme waren also im Laufe anderer Untersuchungen durchuntersucht und als Colibakterien festgestellt. Insgesamt wurden 100 Stämme abgeimpft, darunter befanden sich 9, die auf der Endoplatte weiße Kolonien bildeten.

Die isolierten Kolonien wurden auf Schrägagar überimpft, der Reihe nach numeriert und 24 Std. lang bei 37° bebrütet. Anschließend wurden sie auf eine Reihe gebracht, die sich aus folgenden Nährsubstraten zusammensetzte:

1. Trypsin-Pepton-Lösung zum Indolnachweis
2. Traubenzuckeragarschüttelkultur
3. Eine modifizierte Barsiekow-Lösung mit 1 proz. Saccharosezusatz mit Bromthymolbau als Indikator
4. Eine ebensolche mit 1proz. Dulcitzusatz

5. Eine desgleichen mit 1proz. Salizinzusatz.

Die Reinkulturen wurden alle 10 Tage auf frischen Schrägagar überimpft und so aufbewahrt.

Nach eintägiger Bebrütung bei 37° C im Thermostaten wurde die Indolreaktion mit dem Ehrlich'schen Reagenz ausgeführt und die Gasproduktion aus Glukose kontrolliert.

Von den 100 Stämmen waren 5 indolnegativ, 4 bildeten kein Gas, unteren letzteren befanden sich 2, die auf festem Milchzuckerindikatornährboden keine Säure bildeten. Diese neun Stämme wurden für die weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

Die auf Endoagar weiß wachsenden Stämme wurden auf ihr Säurebildungsvermögen in flüssigen Laktosenährböden geprüft. Hierzu diente eine modifizierte Barsiekow-Lösung mit 1proz. Laktosezusatz. Bezüglich ihres Laktospaltungsvermögens konnte an dem kleinen Material, das hier zur Verfügung stand, die Erfahrung von Kristensen, Bojlen und Kjaer, die diese an einem weit größeren Material machten, bestätigt werden. Auch Minning führt in seiner Arbeit an, daß bei derartigen Stämmen oft erst spät das Säurebildungsvermögen in flüssigen Laktosenährböden auftritt. Von den nach Ausschaltung der zwei in Glukose gasnegativen übrigbleibenden 7 weiß wachsenden Stämmen bildete einer nach 24 Std., einer nach 2 Tagen, einer nach 3 Tagen, einer nach 5, ein anderer nach 6, wieder ein anderer nach 8 und einer erst nach 10 Tagen Säure aus Laktose.

Die einzelnen Barsiekow-Lösungen wurden täglich kontrolliert, die Zeitspanne vom Tag der Überimpfung bis zum Umschlag des Farbindikators aufgezeichnet. Die Beobachtungszeit wurde auf 60 Tage ausgedehnt, da Kristensen, Bojlen und Kjaer auf ihre Bedeutung hingewiesen haben. Sie forderten für Saccharose und Laktose mindestens 21 Tage Beobachtungszeit.

Nach diesen 60 Tagen ergab sich nun bezüglich des Verhaltens der 91 untersuchten Stämme gegenüber den 3 zu untersuchenden Medien, abgesehen von der genauen Zeitangabe des Säurebildungsvermögens, im ganzen folgendes Bild:

Saccharose	wurde angegriffen von	47 Stämmen
	nicht angegriffen von	44 Stämmen
Salizin	wurde angegriffen von	66 Stämmen
	nicht angegriffen von	25 Stämmen

Dulcit	wurde angegriffen von	62 Stämmen
	nicht angegriffen von	29 Stämmen

Aus den 91 Stämmen wurden nun je 12, die die Saccharose, Salizin und Dulcit in verschiedenen Tagen anzugreifen vermochten, gewählt. Diese setzten sich zusammen aus je 3 Stämmen, die bis zu 3 Tagen, je 3, die bis zu 8 Tagen, je 3, die bis zu 21 Tagen ein Angriffsvermögen gegenüber den oben erwähnten Stoffen zeigten. Zuletzt wurden noch je 3 hinzugenommen, die auch bis zu 21 Tagen, ja bis zu 60 Tagen keinen Farbumschlag in Barsiekow-Lösung aufwiesen. Die zur weiteren Überimpfung benutzten Stämme waren folgende:

Für Saccharose:

Stamm	22,95,45	(bis 3 Tage +)
	13,11,20	(bis 4—8 Tage +)
	55,72,77	(bis 9—21 Tage +)
	10,18,26	(bis 60 Tage —)

Für Salizin:

Stamm	42,60,81	(bis 3 Tage +)
	14,15,44	(bis 4—8 Tage +)
	11,38,78	(bis 9—21 Tage +)
	16,39,25	(bis 60 Tage —)

Für Dulcit:

Stamm	19,35,48	(bis 3 Tage +)
	15,27,28,67	(bis 4—8 Tage +)
	78	(15 Tage +, nur einer vorhanden)
	7,30,36,87	(bis 60 Tage —)

Es wurden also insgesamt für die weitere Untersuchung 36 Stämme bearbeitet, die alle auf der Endoplatte in roten Kolonien wuchsen. Mit diesen Stämmen wurde täglich 10 Tage hintereinander eine Überimpfung auf 1% Saccharose, Salizin bzw. Dulcitbouillon vorgenommen.

Es wurde eine Bouillon als Passageflüssigkeit gewählt, da die von Minning benutzte modifizierte Barsiekow-Lösung doch für die Erhaltung und Weiterentwicklung des Bakteriums ein zu geringes Nährsubstrat zu bilden schien.

Nach der 10. Passage, also nach 11tägiger Bebrütung wurde dann überimpft auf eine modifizierte Barsiekow-Lösung mit 1% Saccharose-, Salizin- oder Dulcit-Zusatz mit Bromthymolblau als Indikator.

Wenn nun die einzelnen Passagen auf die fermentative Leistung von Einfluß waren, so mußte dies jetzt in einer Unterschiedlichkeit des Angriffszeitpunktes in Erscheinung treten; dies war für Saccharose, Salizin und Dulcit der Fall (s. Tab.). Um noch eine weitere Steigerung zu erzielen, wurden bis zu 20 Passagen durchgeführt und dann nochmals auf die vorhin beschriebene Barsiekow-Lösung überimpft. Auch hier zeigte sich eine noch weitere merkliche positive Beeinflussung des Angriffsvermögens gegenüber der 10. Passage (s. Tab.). Zur Kontrolle wurde nochmals jeder Stamm von der Reinkultur, die alle 10 Tage neu auf Schrägagar gebracht wurde, — also ohne jede Passage — auf die betreffende Barsiekow-Lösung gebracht, um hierdurch die Abhängigkeit der Steigerung der fermentativen Leistung von den einzelnen Passagen deutlich zu erkennen. Diese Kontrolle ließ zwar, wie noch erwähnt wird, kleine Unterschiede im Säurebildungsvermögen bei der gleichen angewandten Technik im Vergleich zu den vor etwa 20 Tagen erzielten Ergebnissen erkennen. Sie waren jedoch keineswegs derart, daß sie die Wirkung der Passagen in Frage stellen könnten (s. Tab.). Von derartigen unterschiedlichen Untersuchungsergebnissen bei genau der gleichen Technik nach einem längeren Zeitraum, berichtet auch Minning in seiner Arbeit. Es sei noch erwähnt, daß alle Stämme, die nur den geringsten Verdacht einer Verunreinigung aufkommn ließen, sofort sowohl kulturell wie auch mikroskopisch auf ihre Zugehörigkeit zur Coligruppe untersucht wurden.

Säurebildung in Saccharose-Barsiekow

Stamm Nr.	ohne Passage	10. Passage	20. Passage	Kontroll.
22	3+	1+	1+	2+
95	3+	1+	1+	2+
45	2+	1+	1+	1+
13	5+	—	—	Coli +
11	6+	1+	1+	7+
20	7+	4+	1+	9+
55	12+	1+	1+	1+
72	13+	—	—	Coli +
77	18+	5+	1+	12+
10	60—	—	1+	60—
18	60—	—	—	60—
26	60—	—	—	60—

Tabelle I

Säurebildung in Salizin-Barsiekow

Stamm Nr.	ohne Passage	10. Passage	20. Passage	Kontroll
42	3+	1+	1+	3+
60	3+	1+	1+	3+
81	3+	1+	1+	3+
14	7+	5+	3+	9+
15	5+	1+	1+	4+
44	8+	—	—	Coli +
11	14+	1+	1+	6+
38	10+	1+	1+	7+
78	9+	—	—	Coli -
16	60—	28+	16+	55+
39	60—	2+	2+	60—
25	60—	—	—	60—

Tabelle II

Säurebildung in Dulcit-Barsiekow

Stamm Nr.	ohne Passage	10. Passage	20. Passage	Kontroll.
19	3+	1+	1+	3+
35	3+	1+	1+	2+
48	3+	2+	1+	2+
15	5+	3+	1+	5+
27	6+	3+	1+	1+
28	7+	3+	1+	4+
67	5+	4+	2+	4+
78	15+	—	—	Coli -
7	60—	—	—	60—
30	60—	—	—	60—
36	60—	60+	—	60—
87	60—	—	—	60—

Tabelle III

Zeichenerklärung:
2 + bedeutet: Spaltung nach 2 Tagen
60 — bedeutet: nach 60 Tagen keine Spaltung
coli + bedeutet: Kontrolle auf Colibacillus ist positiv.
coli — bedeutet: Kontrolle auf Colibacillus ist negativ.

Tabelle I zeigt deutlich, daß bzgl. des Saccharosespaltungsvermögens des Bakterium coli durch einzelne Passagen eine weitgehende Verstärkung zu erzielen ist. Von den 12 untersuchten Stämmen, die vorher erst nach verschiedenen Tagen Säure in Saccharose bildeten, konnten 9 dazu gebracht werden, diese schon innerhalb 24 Std. anzugreifen. 2 Stämme, 13 und 72 zeigten einen plötzlichen Stillstand des Angriffsvermögens und spalteten auch bei der Kontrolle — also ohne Passage — den bereits vorher zersetzten Zucker nicht mehr. Der Verdacht einer Verunreinigung bestätige sich nicht; es handelte sich nach wie vor um Colibazillen.

Bemerkenswert ist der Einfluß der Passagen bei Stamm 10, der die Saccharose nicht einmal nach 60 Tagen angegriffen hatte, diese aber nach der 20. Passage bereits nach einem Tage spaltete. Da dieser Erfolg etwas überraschend wirkte, wurde auch hier die Kontrolle, und zwar von der 20. Passage, auf Coli gemacht. Sie fiel positiv aus, d. h. es wurde Indol, Gas in Glukose, Säure in Laktose gebildet. Auf Endo wuchsen wunderschöne rote Kolonien mit Fuchsinglanz. Hier bei Stamm 10 trat also besonders schön die Passagenwirkung hervor.

Zu der in Spalte 5 angeführten Kontrolle ist zu bemerken, daß keine der 12 Stämme dasselbe Ergebnis zeitigte, wie bei der vorangegangenen Untersuchung. Ausgenommen sind die drei letzten, die auch nach 60 Tagen keinen Farbumschlag erkennen ließen. Man neigt zu der Annahme, daß der Aufenthalt des Bakteriums im Schrägagar an sich in förderndem Sinne auf das Säurebildungsvermögen wirke, zumal da dieses meistens gegenüber der ersten Untersuchung heraufgesetzt war. Stamm 11 und 20 zeigen jedoch, daß nicht nur ein Plus, sondern auch ein Minus im Spaltungsvermögen eingetreten war. Dies war aber bei den durch Passagen erzielten Ergebnissen niemals der Fall. Das Gleiche zeigten die Versuchsreihen beim Salizin und beim Dulcit.

Aus der Tabelle ist klar ersichtlich, daß die vielen Passagen zu der Steigerung der fermentativen Leistung wesentlich beigetragen haben. Anzunehmen ist, daß bei einer noch genaueren Beobachtungszeit (statt der täglichen Beobachtung vielleicht mehrmals täglich) die Wirkung der einzelnen Passagen noch deutlicher hervorgetreten wäre, besonders bei denjenigen Stämmen, die bereits nach 24 Std. einen Farbumschlag des Indikators bewirkten. Stamm 18 und 26 waren trotz 20 Überimpfungen nicht imstande, nach 60 Tagen Saccharose anzugrei-

fen. Der Grund hierfür liegt vielleicht in der zu geringen Anzahl der hierfür erforderlich gewesenen Passagen. Auch sei dahingestellt, ob die angewandte Technik die optimale Bedingung für die Anpassung darstellt. Wesentlich scheint zunächst das Principielle.

Beim Salizin lagen die Verhältnisse ähnlich (Tab. II). Hier erwies sich Stamm 44 trotz positiver Colikontrolle bei den weiteren Untersuchungen vollkommen inaktiv. Stamm 78 fiel für die weitere Bearbeitung weg, da die während der 20. Passage ausgeführte Kontrolle eine Verunreinigung ergab. Die Wirkung der Passagen beim Salizin waren interessant bei Stamm 16, besonders aber bei Stamm 39. Stamm 16, der vor Beginn der Passagen nicht nach 60 Tagen angriff, vermochte nach der 10. Passage nach 28, nach der 20. Pasage sogar nach 16 Tagen Salizin zu spalten. Bei Stamm 39, der ebenfalls nach 60 Tagen dem Salizin gegenüber inaktiv war, gelang es, die fermentative Leistung derart zu steigern, daß bereits nach zwei Tagen ein Farbumschlag in Salizin-Barsiekow eintrat.

Beim Dulcit konnte allerdings nur ein Stamm, der vorher nach 60 Tagen keine Säure bildete, dazu gebracht werden, bei der 10. Passage Dulcit nach 60 Tagen anzugreifen. Man hätte von diesem Stamm erwarten können, daß er nach der 20. Passage mindestens bis zu 60 Tagen, wenn gar nicht früher, einen Farbumschlag erkennen ließ. Jedoch war dies nicht der Fall, somit ist das Ergebnis mit Einschränkung zu werten.

Stamm 78 fiel auch hier wegen Verunreinigung für die weitere Untersuchung aus.

Beim Dulcit konnte, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, genau so wie beim Salizin und bei der Saccharose ein wesentlicher Einfluß der einzelnen Passagen auf die Steigerung des Angriffsvermögens festgestellt werden.

Ein Unterschied in der Beeinflussung, begründet in der Verschiedenheit der chemischen Struktur der Saccharose, des Salizins und des Dulcits ließ sich nicht feststellen.

ZUSAMMENFASSUNG.

Es wird eingangs auf die Bedeutung des Kohlehydratspaltungsvermögens des Bakterium coli für seine Diagnostik und Systematik eingegangen. Im Zusammenhang damit wird seine Inkonstanz und die hiermit verbundene Beeinflussung durch äußere Faktoren er-

wähnt. Das Mutations- und Variationsproblem wird kurz gestreift, die verschiedenen Ansichten einzelner Autoren hierüber angeführt. Die meisten neigen zu der Ansicht, daß es sich bei den scheinbaren Neuerwerbungen nur um ein Zurückkehren zu einer früher bereits vorhandenen Eigenschaft handelt. Ein Colibazillus kann phänotypisch eine Eigenschaft verlieren, die er aber genotypisch beibehält. Diese läßt sich durch Umweltfaktoren (Kontakt mit dem betreffenden Medium) beeinflussen, sodaß sie sichtbar hervortritt, und auf diese Weise als Neuerwerbung imponiert. Diese Labilität inbezug auf Kohlehydratspaltung und der hierdurch ins Wanken geratene Bau eines Teils der auf dieser Fähigkeit beruhenden Systematik des Colibazillus unterstützen die bereits von Staberow vorgeschlagene Bezeichnung des „fermentschwachen" Coli für gewisse Stämme, anstelle der vielen Bezeichnungen, wie sie in der Literatur bekannt geworden sind.

Zu den im Schrifttum unter anderem bekannt gewordenen Versuchen zur Beeinflussung des K.H.-Spaltungsvermögens durch Passagen wird durch angeführte Versuche ein Beitrag geliefert. Es ließ sich zeigen, daß die fermentative Leistung des Colibazillus gegenüber Saccharose, Salizin und Dulcit durch eine Anzahl von Passagen (bis zu 20) in einer Bouillon, der Saccharose, Salizin und Dulcit in 1-proz. Lösung zugesetzt war, erheblich gesteigert werden kann. Ein anfangs scheinbar nicht vorhandenes, aber doch „latentes" Angriffsvermögen wurde durch diese Passagen „manifest". Hierbei handelte es sich lediglich um eine Steigerung eines bereits vorhandenen Leistungsvermögens.

Ein Unterschied in der Beeinflussung, bedingt durch die Verschiedenheit der chemischen Struktur der Saccharose, des Salizins und des Dulcits konnte nicht festgestellt werden. Daß nicht der Aufenthalt in dem Medium an sich, sondern die Anzahl der Passagen das Entscheidende war, ist deutlich gezeigt.

Zum Schlusse spreche ich Herrn Dozenten Dr. Weiland für die freundliche Überlassung und die Unterstützung bei der Arbeit meinen herzlichen Dank aus.

Zudem danke ich dem damaligen Assistenten, Herrn Dr. Minning für seine zu Beginn der Arbeit gemachten Anregungen und Anleitungen.

LITERATUR.

Adams: Jb. Kinderheilk. 101, 1923.
Anselmi: Zbl. Bact. Orig. 92.
Burk: Zbl. Bact. Orig. 45.
Burri u. Andrejew: Zbl. Bact. Orig. 56.
Bergey: Manual of determinativ bacteriology.
Beneke: Ztschr. f. induct. Abstammungs- u. Vererbungslehre 1909.
Burri: Zbl. Bact. Orig. 2. Abt. Bd. 28.
Bärthlein: Zbl. Bact. Orig. 81.
Capaldi u. Proskauer: Ztschr. f. Hygiene Bd. 23.
Castellani u. Chalmers: Annales L'Instit. Pasteur 1909 Bd. 2.
Drigalski u. Conradi: Ztschr. f. Hyg. Bd. 39.
Durham: J. exper. Med. 5 pg. 353.
Duthoit u. Gernez: C. R. Soc. Biol. Bd. 87 1922.
Eisenberg: Zbl. Bact. Orig. 80.
Engering, P. v.: Zbl. Bact. Orig. Abt. I 92.
Grimbert: Annales l'Institut. Pasteur T 10 1896.
Germano u. Maurea: Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie Bd. 12.
Grjanko: Zbl. f. d. gesamt. Hyg. Ref. Bd. 28.
Gerber, B. A.: Zbl. Bact. I. Orig. 141.
Haupt: Ergebnisse der Hygiene.
Hoder, F. u. E. Singer: Zbl. Bact. Orig. 105.
Jackson: Zbl. Bact. Abt. I Ref. Bd. 50.
Jaffé: Arch. f. Hyg. Bd. 76.
Kolle-Wassermann: Bd. 6 1913 und 1929.
Kligler, J. J.: Zbl. Bact. Abtl. I Ref. Bd. 64.
Kristensen, Bojlen, Kjaer: Zbl. Bact. Orig. 134.
Klieneberger: Zbl. Bact. Orig. 96.
König: Diss. Frankfurt 1922.
Knoth: Zbl. f. Fleisch- u. Milchhygiene 41, 117.
Koser, Stewart and Vaugham: J. Bacter. 33, 587—602.
MacConkey: Journ. of. Hyg. Vol. V 1909.
Minning: Zbl. Bact. Orig. I. Abtl. 140.
Müller, Reiner: Münch. med. Wochenschr. 1909 p. 885.
Müller, Reiner u. Burk: Arch .f. Hyg. Bd. 65.
Moro: Münch. med. Wochenschr. 1908.
Nißle in Kolle-Wassermann: Bd. 6 1929.
Neißer, M. u. Massini: Arch. f. Hyg. Bd. 61.
Park: Zbl. Bact. Abtl. I Ref. Bd. 37.
Park u. Williams: Pathogenie Mikroorganismes.
Pringsheim: Med. Klinik 1911 Bd. 14.
Prell: Zbl. Bact. Orig. 80 u. 79.

Revis: Zb. Bact. Abt. II Bd. 26.
Reichenbach: Zbl. Bact. I. Abtl. Bd. 42.
Ryti: Zbl. Bact. Ref. 100.
Standfuß: in Kolle Wassermann 1929.
Staberow: Zbl. Bact. Orig. I. Abtl. 141.
Stewart: Zbl. Bact. Ref. 85.
Stokes, Royal u. Stoner: Zbl. Bact. I. Abt. Ref. Bd. 64.
Stickdorn, W.: Zbl. Bact. Abt. I Orig. 76.
Segin: Zbl. Bact. Orig. 34.
Seiffert: Ztchr. f. Hyg. Bd. 71.
Siberstein, Rappaport u. Kolmer: Zbl. Bact. Orig. 124.
Seydel: Zbl. Bact. Ref. 110.
Schmidt: Zbl. Bact. Abtl. I Ref. Bd. 53.
Springer: Zbl. Bact. Orig. Bd. 60.
Twort, F. W.: Zbl. Bact. Abt. I. Ref. Bd. XI.
Tregoning u. Pol: Zbl. Bact. Ref. 129.

LEBENSLAUF.

Am 24. Dezember 1912 wurde ich, Wilhelm Josef Hillemanns, als Sohn des Kaufmanns Hubert Hillemanns und seiner Ehefrau Elise geb. Jansen in Stolberg Rhld. geboren. Nach 5jährigem Volksschulbesuch besuchte ich das Gymnasium zu Stolberg Rhld. und bestand im März 1933 die Reifeprüfung.

Meine medizinischen Studiensemester verbrachte ich alle in Bonn, wo ich am 30. April 1934 den I. Abschnitt, am 24. Oktober 1935 den II. Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung ablegte. Das ärztliche Staatsexamen bestand ich im Wintersemester 1938 an der Rheinischen Friedrichs-Wilhelms-Universität zu Bonn.